登革病毒 3’UTRΔ30 系列疫苗的研究进展

许嘉越　李紫倩　张革*

（中山大学药学院 广州 510006）

摘要　登革病毒引发的登革热等疾病每年在全球范围内造成了相当大的经济、医疗、社会负担，严重威胁到人类生命健康。在目前研究的各种登革病毒疫苗中，采用反向遗传技术制得的 3’UTRΔ30 系列减毒活疫苗由于其免疫原性好，效价高，成本低等特点，在临床试验中展现出良好保护作用，研究推进快。能对四种血清型登革病毒都产生均衡免疫保护的 3’UTRΔ30 四联疫苗已处于 III 期临床试验阶段，效力强，不良反应少，待随访期结束后有望上市，是当今最有前景的登革减毒灭活疫苗之一。为更深入了解 3’UTRΔ30 系列疫苗，现主要从起源、制备方法、临床研究等方面进行介绍。

关键词　登革病毒；3’UTRΔ30 疫苗；制备方法；临床研究

登革病毒(dengue virus, DENV)属于黄病毒科，为单股正链 RNA 病毒，长约 11kb，完整基因组的 5’UTR 附带 m7-GpppA-m2 帽子结构（Cap-1 structure），3’UTR 含有相对保守序列，没有 polyA 尾[1]。DENV 是登革热（dengue fever, DF）、登革出血热(dengue hemorrhagic fever, DHF)及登革休克综合征(dengue shock syndrome, DSS)的病原体[2]，由于人口流动、温室效应等原因，其感染和传播显示出明显增加的趋势，尤其在热带与亚热带地区，登革热的频繁暴发严重威胁到人类生命健康。据估计，全球每年感染 DENV 的人将会超过 3.9 亿，其中显性感染者达 9600 万 [3]。我国近年来登革热疫情的状况也愈发严峻，以华南地区的暴发情况最为严重。以 2014 年为例，仅在广州确证的病例就将近 4 万。综上可见，DENV 在全球范围内造成的经济损失、社会和医疗上的负担十分巨大。

尽管登革热疫情严重，但至今除控制传播蚊媒外，仍没有较好的预防方法及治疗的特效药，研制疫苗是抵抗该病症的最有效方法。DENV 根据抗原性的不同，可分为四种血清型：DENV-1、DENV-2、DENV-3、DENV-4，任意一种血清型初

* 通讯作者，电子邮箱：zhangge@mail.sysu.edu.cn

次感染机体后，均可产生中和抗体，使机体长久地保持对抗同种血清型登革病毒的免疫效应。但初次感染的同时体内也会产生低浓度、低亲和力的交叉反应非中和抗体，若再次感染的病毒为异血清型，交叉反应抗体会与病毒形成抗原-抗体复合物，通过 Fc 受体进入并感染巨噬细胞，引起病毒大量增殖并产生 DHF、DSS 等严重并发症，这种作用称为抗体依赖性增强效应（Antibody-dependent enhancement, ADE）[4]。因此，一个有效的登革疫苗必须为四价疫苗，能同时对四种血清型 DENV 产生良好而均衡的免疫应答，以避免 ADE 效应的产生。

当前正在研究的疫苗类型主要有减毒活疫苗（Live, attenuated vaccine, LAV）、重组病毒疫苗、纯化灭活疫苗（Purified, inactivated vaccine, PLV）、病毒样颗粒（Virus-like particles, VLPs）、亚单位及重组蛋白疫苗和 DNA 疫苗等。其中 3'UTRΔ30 系列减毒活疫苗能够诱导与野生型病毒相似的免疫反应，具有很好的免疫原性和保护作用，成本低，效价高，在当前的研究推进快。其四联疫苗形式 TV003 是一种新型的减毒活疫苗，抗体应答水平良好，应用时仅接受 1 剂即可，目前正在进行 III 期临床试验，被认为是一种很有前景的四联登革热候选疫苗[5]。本文将从原理、制备、改进、临床试验结果等多方面对 3'UTRΔ30 系列疫苗进行综述。

1　3'UTRΔ30 疫苗的发展与制备

1.1　DENV 基因结构

登革病毒的基因组由一个完整的开放阅读框（ORF），编码三种病毒结构蛋白核蛋白（core protein, C）、膜蛋白（membrane protein, M）和包膜蛋白（envelope protein, E）和七个非结构蛋白（NS1、NS2A、NS2B、NS3、NS4A、NS4B、NS5）（图 1）。成熟的病毒颗粒外层的脂质包膜上镶嵌有 M 和 E 两种跨膜蛋白，其中 E 蛋白参与病毒的侵入与融合，是宿主体内抗体反应的主要靶点。此外，病毒基因组 RNA 的 5' 端 3'端还各有一段非编码区（UTR），尤其是 3'UTR，在病毒的翻译和复制中具有重要作用[6]。此序列的缺失可能会改变基因组 RNA 的二级结构及 RNA 与结构蛋白的相互作用，从而影响登革病毒的增殖和感染过程而导致减毒。

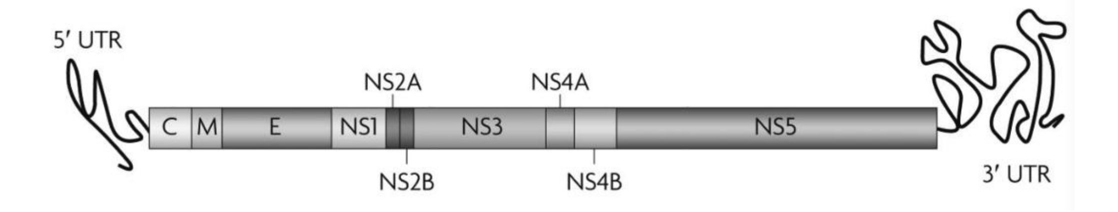


图 1 DENV 的基因结构[1]

Fig. 1 The gene structure of DENV[1]

先前的减毒机制研究为通过定点突变获得 DENV 减毒株提供了理论依据。1997 年 Kinney 发现了减毒株 DENV 2 PDK53 与野生型间存在 5 个氨基酸的差异，表明了 DENV 减毒与基因变异之间的联系；Butrapet 发现 DENV 2 PDK53 两至三个氨基酸的变化即可引起病毒表型的明显变化；后来 Puri 等发现，随传代次数增加，突变位点增多，表明了 DENV 毒力由多位点控制 [7]。因此结合 DENV 3’UTR 的结构功能特点，不难想到对 3’UTR 进行部分缺失突变以获得减毒株疫苗的方法。

1.2　反向遗传学技术

通过在分子水平操作，有目的地对 DNA 进行重组或定点突变等反向遗传学技术为基础的新型 DENV 减毒疫苗研制正成为研究的热点。1991 年，Lia 等首次构建了 DENV4 的全长 cDNA 克隆，使 DENV 人工定向减毒成为可能；Whitehead 等对其进行进一步优化，获得了操作简便，稳定性高的 DENV 4 反向遗传学系统 [8]；后来 Blaney 等利用优化后的 pBR322 载体构建了 DENV1、DENV2、DENV3 反向遗传学系统，完成了疫苗研究平台的构建。这为 3’UTRΔ30 疫苗的构建、制备与改进提供了重要技术基础。

1.3　3’UTRΔ30 疫苗的制备及改进

1996 年美国国立卫生研究院过敏与传染病研究所（NIH NIAID）的 Men 等人将 DENV-4 814669 株 3’UTR172～143nt 的 30 个碱基剪切，获得减毒株 rDENV4Δ30（图 2），在减毒的同时没有改变病毒增殖特性，且在猴体试验中不仅显示出减毒特征，还能产生与母株相同水平的抗体（表 1）[9]。在 I 期与 II 期的临床实验中，rDENV4Δ30 表现出了低反应原性和低毒血症 [10-11]。为进一步提

高 rDENV4Δ30 的减毒稳定性，降低肝毒性等不良反应，Julie H 等在 NS5 编码区第 200、201 位密码子引入基因突变，得到 rDENV4Δ30-200, 201，在 I 期试验中血清抗体阳转率达 100%，所有接种者体内未检到病毒血症及丙氨酸转氨酶升高；Peter F 等在 NS3 编码区 4995nt 引入一定点突变得到 rDENV4Δ30-4995，在 20 名健康志愿者中血清抗体阳转率达 95%，也未检查到病毒血症及丙氨酸转氨酶升高。

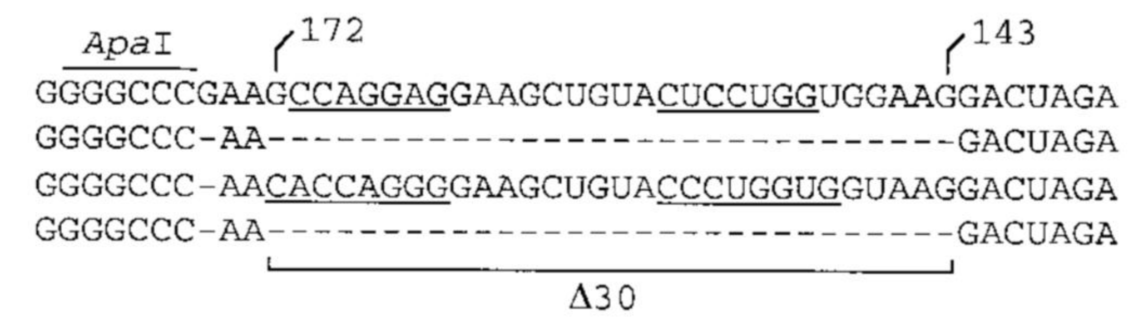


图 2 rDENV4Δ30 与 rDENV1Δ30 的部分结构[8]

Fig. 2 The partial structure of rDENV4Δ30 and rDENV1Δ30[8]

相同的道理， DENV-1 通过缺失同源区域，获得了 rDENV1Δ30 减毒株（图 2），在临床前和临床 I 期试验中体现出良好的安全性、免疫原性，也有与 rDENV4Δ30 类似的不良反应 [15-16]。对于 DENV-2 和 DENV-3，由于采用相同的策略没有降低毒性，研究者们以减毒株 rDENV4Δ30 为骨架，将野生型 DENV-2 和 DENV-3 编码 PrM 和 E 蛋白的基因替换入 rDENV4Δ30 的相应区域获得型间嵌合疫苗株 rDENV2/4Δ30（图 3）和 rDENV3/4Δ30，在动物试验中均表现为有效减毒和诱导产生对应血清型的抗病毒反应 [17-18]。 rDENV2/4Δ30 的临床 I 期试验中，没有接种者出现登革热症状，但有人体内检测出病毒血症和丙氨酸转氨酶的短暂升高[19]。除此之外，在 3'UTR 已缺失 30 个碱基的基础上，再在上游 55bp 处再缺失 31 个碱基可得到 rDENV3Δ30 / 31；用 rDENV3 的整个 3'UTR 区域替换 rDENV4Δ30 的 3'UTR 得到嵌合减毒株 rDENV3-3'D4Δ30。I 期临床试验结果显示，两种疫苗给药后表现出良好的安全性，分别有 95%和 80%的血清转化率；有接种者出现皮疹和头痛的不良反应[20]。

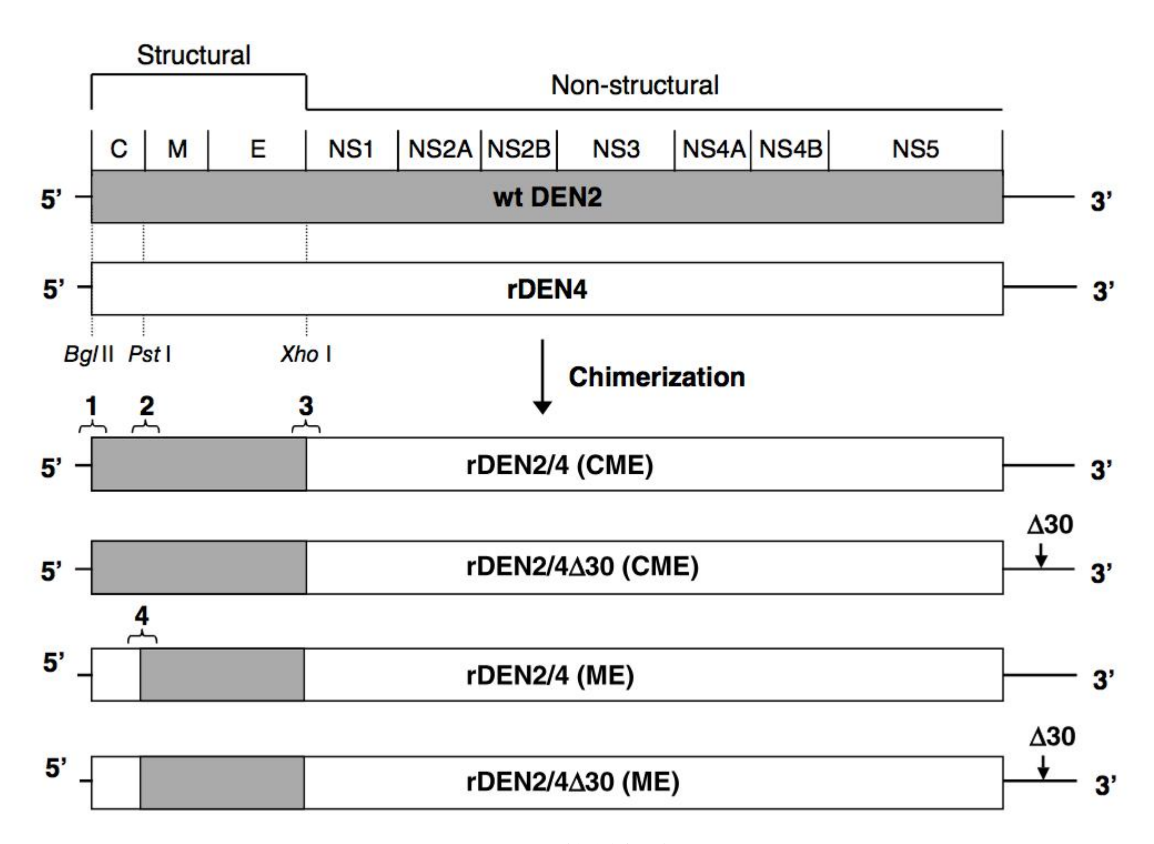


图 3 rDENV2/4Δ30 的制备过程[17]

Fig. 3 The preparation process of rDENV2/4Δ30[17]

对于以上得到的 8 株减毒活疫苗，NIAID 设计了五种配伍方案，每种方案选用不同的 DENV1~DENV4 减毒株，在剂量比上稍作区别，即得到 3'UTRΔ30 四联疫苗 TV001~TV005（表 2）[21]。其中，TV003 与 TV005 的组分完全一致，仅 rDENV2/4Δ30 的剂量略有不同，具体配伍比例 rDENV1Δ30: rDENV2/4Δ30: rDENV3Δ30/31: rDENV4Δ30 的 (PFU) 分别为 $10^3:10^3:10^3:10^3$ 和 $10^3:10^4:10^3:10^3$ [22]。

表 1 登革病毒疫苗 3'UTRΔ30 的研究现状

Table 1 The research status of Dengue Virus Vaccine: 3'UTRΔ30

试验疫苗	时间	试验分期	试验地点	试验对象	接种方式&剂量	参考文献
rDENV4Δ30	1996	临床前	美国 NIAID	恒河猴	单次免疫；s.c.[1]； 剂量（1×10^5 PFU）	[9]
	2001	临床 I 期	美国 CIR	健康志愿者 20 人	单次免疫；s.c.； 剂量（1×10^5 PFU/0.5ml）	[10] [12]

	2005	临床 II 期	美国 NIAID	健康志愿者 5 人	单次免疫；s.c.；剂量递减（1×10^3 PFU，1×10^2 PFU，10 PFU）	[11]
rDENV4Δ30-200，201	2008	临床 I 期	美国 NIAID	健康志愿者 20 人	单次免疫；s.c.；剂量（1×10^5 PFU/0.5ml）	[13]
rDENV4Δ30-4995	2009	临床 I 期	美国 NIAID	健康志愿者 20 人	单次免疫；s.c.；剂量（1×10^5 PFU/0.5ml）	[14]
rDENV1Δ30	2003	临床前	美国 NIAID	恒河猴	单次免疫；s.c.；剂量（1×10^5 PFU/0.5ml）	[15]
	2006	临床 I 期	美国 NIAID	健康志愿者 28 人	单次免疫；s.c.；剂量（1×10^3 PFU/0.5ml）	[16]
rDENV2/4Δ30	2003	临床前	美国 NIAID	小鼠，恒河猴等	单次免疫；s.c.；剂量（小鼠 1×10^4 PFU，猴 1×10^5 PFU）	[17]
	2006	临床 I 期	美国 NIAID	健康志愿者 20 人	单次免疫；s.c.；剂量（1×10^3 PFU/0.5ml）	[19]
rDENV3/4Δ30	2004	临床前	美国 NIAID	小鼠，恒河猴等	单次免疫；s.c.；剂量（小鼠 1×10^4 PFU，猴 1×10^5 PFU）	[18]
rDENV3Δ30 / 31	2011	临床 I 期	美国 NIAID	健康志愿者 20 人	单次免疫；s.c.；剂量（1×10^3 PFU）	[20]
rDENV3-3'D4Δ30	2011	临床 I 期	美国 NIAID	健康志愿者 20 人	单次免疫；s.c.；剂量（1×10^3 PFU）	[20]
TV001~TV004	2013	临床 I 期	美国 NIAID	每种疫苗健康志愿者 28 人，共 112 人	单次免疫；s.c.；剂量（1×10^3 PFU/0.5ml）	[21]
TV003、TV005	2015	临床 I 期	美国 NIAID	健康志愿者共 168 人	6 个月后加强免疫；s.c.；剂量（1×10^3 PFU）	[22]
TV003	2016	临床 I 期	美国	健康志愿者 48	12 个月后加强免疫；s.c.；	[23]

		NIAID	人	剂量（1×10³ PFU）	
2016	临床 II 期	美国 NIAID	健康志愿者 48 人	单次免疫；s.c.；剂量（1×10³ PFU）	[24]
2016—	临床 II 期	泰国，孟加拉国		单剂量	[23]，[26]
2016 年 2 月—	临床 III 期	巴西		单剂量，五年随访	[23], [25], [26]

1）s.c.= subcutaneous，皮下注射

表 2 3’UTRΔ30 四联疫苗 TV001~TV004 的配伍组成

Table 2 The compatibility and composition of TV001~TV004

疫苗类型	每种成分剂量（以 Log_{10}PFU 计）	用于指定血清型的单价疫苗成分			
		DENV-1	DENV-2	DENV-3	DENV-4
TV001	3,3,3,3	rDENV1Δ30	rDENV2/4Δ30	rDENV3-3’D4Δ30	rDENV4Δ30
TV002	3,3,3,3	rDENV1Δ30	rDENV2/4Δ30	rDENV3-3’D4Δ30	rDENV4Δ30-200，201
TV003	3,3,3,3	rDENV1Δ30	rDENV2/4Δ30	rDENV3Δ30／31	rDENV4Δ30
TV004	3,3,3,3	rDENV1Δ30	rDENV2/4Δ30	rDENV3Δ30／31	rDENV4Δ30-200，201
TV005	3,4,3,3	rDENV1Δ30	rDENV2/4Δ30	rDENV3Δ30／31	rDENV4Δ30

2 3’UTRΔ30 四联疫苗的临床试验研究

TV001~TV005 的产生意味着 3’UTRΔ30 登革四价疫苗的初步成型。为了评价单一剂量 TV001~TV004 疫苗的安全性和免疫原性，NIAID 在 112 名健康志愿者中开展了临床 I 期试验研究。志愿者共分成 4 组，每组 28 人，分别对应 TV001-TV004 四种疫苗。试验组于第 0 天皮下注射 0.5ml103PFU 的疫苗，对照组注射相同体积的安慰剂（疫苗稀释剂），并于第 0，28，42，180 天测定所有 4 种登革病毒的血清中抗体水平。通过检测对 4 个型病毒的抗体阳转率发现，这四种疫苗仅接种 1 剂后对 3 个型病毒的抗体阳转率均达 75%～95%。其中 TV003 的结果最好，除对 DENV-2 的抗体阳转率只有 50%外，对其余各型都达到 85%～100%[21]。

TV005 相比于 TV003，在 rDENV2/4Δ30 的含量上有所增高。为了评价与比较 TV005 的安全性和免疫原性，NIAID 在 168 名健康志愿者中分组分别两次（间隔 6 个月）给予皮下注射 TV003 和 TV005，同时设有安慰剂对照组。两组分别在每次接种后的第 21，28，42，180 天和第 3，8，10，12，14，16，21，28，56，90，180 天进行临床评估和相关指标检查。结果表明，在接种疫苗后的第 90 天，TV005 方案中的受试者对 DENV2 的血清转换率达到了 97%，显著高于 TV003 组；TV005 组可与 TV003 产生相近的均衡的细胞免疫和体液免疫反应。此外，该试验与另一项专门研究 TV003 间隔一年后的接种第 2 针的试验均表明，二次接种对 TV005 和 TV003 的免疫效价提升不明显，说明仅一次免疫即可在患者中达到较好的保护效果[22-23]。

为了进一步评价 TV003 的免疫保护效果，Kirkpatrick 等在 48 名健康志愿者中进行了随机双盲安慰剂对照实验：接种 1 剂 TV003 的 6 个月后，给予受试者 rDENV2Δ30 病毒。主要观察终点包括疫苗是否保护机体免受病毒感染以及 rDEN2VΔ30 病毒血症的发生；此外还需观察是否出现皮疹、中性粒细胞减少等不良反应。结果显示试验组的 21 名受试者均未发生病毒血症、皮疹、嗜中性粒细胞减少症，而安慰剂对照组的 20 名志愿者中共观察到 16 例皮疹，4 例中性粒

细胞减少，说明 TV003 对登革病毒感染具完全良好的免疫保护效力[24]。

先前关于 TV003 的临床研究进展为在泰国进行的临床 II 期及巴西的 III 期临床试验提供了丰富的理论和实践基础。由于尚不清楚 TV003 的单次免疫应答时间持续多久，因此在 II 期和 III 期的研究中需验证单次剂量的有效性[23]。此外，为了更全面地评价 III 期临床试验的结果，该疫苗还拟定了 5 年的随访期，确保其作用效果良好且无显著副作用。目前，TV003 已在巴西、越南和印度获批生产，美国默克公司（Merck）和英国葛兰素史克公司（GSK）对该候选疫苗也表现出浓厚的兴趣，试图开展更深入的研究，甚至计划将该疫苗与其自主研发的候选疫苗混合使用。

3. 与已上市登革疫苗 CYD-TDV™ 的比较

CYD-TDV™ 是法国赛诺菲-巴斯德公司历经 20 年研制的登革病毒疫苗，于 2015 年 12 月在墨西哥上市，也是全球首款上市的登革病毒四价疫苗。CYD-TDV™ 与 3’UTRΔ30 四联疫苗 TV003 一样同属于嵌合减毒活疫苗，不同的地方在于 CYD-TDV™ 是以黄病毒 YF-17D 为载体，嵌合入 DENV 的 PrM 和 E 基因制成[27]-[28]。在上市前，CYD-TDV™ 已在 10 余多个国家开展过临床 III 期试验并展现出良好的免疫保护效果，但在临床试验与随访期间也暴露出一些缺陷，而 TV003 却能较好地弥补这些缺点（表 3）：

表 3 TV003 与 CYD-TDV™ 的比较

Table 3 The comparison between TV003 and CYD-TDV™

	CYD-TDV™	TV003
结构	缺少 DENV 的全部非结构蛋白 NS 蛋白	包含 DENV 全部 NS 蛋白
免疫次数	受试者需在第 0、6、12 个月接受 3 次免疫[29]	一次免疫
免疫保护效果	未能够对四型 DENV 提供均衡的保护[30]-[31]；持久性短	均衡的免疫保护效果，效力持续时间长
人群差异性	人群差异性显著 ①对 9 岁以上保护率明显高于 9 岁以下	暂时未观察到明显人群差异性现象

[32-33]

②对从未感染过 DENV 或体内 DENV 抗体阴性的接种者的整体保护效率偏低

NS 蛋白往往具有 $CD8^+$表位，因此缺乏 NS 蛋白的 CYD-TDV™ 往往缺失 $CD8^+$T 细胞产生血清型特异的免疫反应，而拥有完整 NS 蛋白的 TV003 则保留有 $CD8^+$T 细胞介导的免疫反应，于是在降低重症 DF 疾病的发生方面的效果更显著。在免疫次数方面，CYD-TDV™ 由于未能对四型 DENV 提供均衡的保护，尤其以 DENV2 水平尤其低，因此通过 1 年内 3 次接种的方式以试图克服该问题；但对于 TV003，仅一次免疫即可诱导机体产生足够免疫效力，且二次接种对免疫效价提升不明显。

此外，临床试验过程中还发现 TV003 极少产生病毒血症、中性粒细胞减少等与疫苗相关的不良反应。综上可见，TV003 在抗体应答水平方面具有显著的优势，且还具备诱导机体产生针对 DENV 的 $CD8^+$T 细胞免疫应答，可以说是当今最具有前景的登革病毒候选活疫苗。

4. 总结与展望

自二十多年前问世以来，3'UTRΔ30 登革疫苗经历了不断的改进与临床试验分析，最终确定了安全性好，免疫保护效果强，不良反应低的四价疫苗形式 TV003，对于人类抗争登革热等疾病具有十分重要意义。但不可否认的是，该类疫苗由于临床 III 期试验未完全结束，其先前所经历的临床试验研究受试者人数偏低、评估时间跨度较短，从中得出的结论的可靠性仍有待进一步考察[34]；针对存在的一次免疫应答持续时间不明确，自然感染状态下抵御四型 DENV 的效果均一性不明等问题，最新的一项研究通过对接种疫苗的志愿者及自然感染的患者的每日基因表达及后续中和抗体滴度进行比较，找出了接种后发生强烈转录反应的时间段及可能的登革病毒感染的早期标志物，使这几方面疑问的解答更近一步[35]。接下来的工作中，为更全面地认识评价 TV003 疫苗的疗效与不良反应，使其在人群中能够得到更有效的应用，继续扩大临床试验覆盖面，全面分析评价随访结果，紧密配合病毒分子流行病学监控，动态监测受试者各项疫苗相关性指标

等将显得更为重要。

致谢　本项目受中山大学“药学品牌专业建设项目”资助。

参考文献

[1] Anderson KB, Endy TP, Thomas SJ. The dynamic role of dengue cross-reactive immunity: changing the approach to defining vaccine safety and efficacy. Lancet Infect Dis, 2018, 99(18): 30126-30129.

[2] Gavin Screaton, Juthathip Mongkolsapaya, Sophie Yacoub, et al. New insights into dengue pathogenesis and control. Nat Rev Immunol, 2015, 15(12):745-759.

[3] Samir B, Peter W Gething, Oliver J. Brady, et al. The global distribution and burden of dengue. Nature. 2013, 496(7446): 504–507.

[4] Scoot B, Halstead. Dengue Antibody-Dependent Enhancement: Knowns and Unknowns. Microbiology Spectrum, 2014, 2(6):1-18.

[5] 陈柠，石磊泰，俞永新. 登革热疫苗最新研究与展望. 中国病毒学杂志, 2016, 6(6):471-480.

Chen Ning, Shi Leitai, Yu Yongxin. Research progress and prospective on Dengue vaccine. Chin J Viral Dis, 2016, 6(6):471-480.

[6] Katzelnick LC, Coloma J, Harris E. Dengue: knowledge gaps, unmet needs, and research priorities. Lancet Infect Dis. 2017, 17(3): 88-100.

[7] Crowe JE Jr. Principles of Broad and Potent Antiviral Human Antibodies: Insights for Vaccine Design. Cell Host Microbe, 2017, 22(2): 193-206.

[8] Whitehead S S, Falgout B, Hanley K A, et al. A live, attenuated dengue virus type 1 vaccine candidate with a 30-nucleotide deletion in the 3’untranslated region is highly attenuated and immunogenic in monkeys. J Virol, 2003,77: 1653-1657.

[9] Ruhe Men, Michael Bray, Debbie Clark, et al. Dengue Type 4 Virus Mutants Containing Deletions in the 39 Noncoding Region of the RNA Genome: Analysis of Growth Restriction in Cell Culture and Altered Viremia Pattern and Immunogenicity in Rhesus Monkeys. J Virol, 1996, 70:3930-3937.

[10] Durbin AP, Karron RA Sun W, et al. Attenuation and immunogenicity in humans of a live dengue virus type-4 vaccine candidate with a 30 nucleotide deletion in

its 3'-untranslated region. Am J Trop Med Hyg, 65(5), 2001, 65(5): 405–413.

[11] Anna P. Durbin, Stephen S. Whitehead, Julie McArthur, et al. rDEN4D30, a Live Attenuated Dengue Virus Type 4 Vaccine Candidate, Is Safe, Immunogenic, and Highly Infectious in Healthy Adult Volunteers. J Infect Dis, 2005, 191(5):710-718.

[12] Troyer JM, Hanley KA, Whitehead SS, et al. A live attenuated recombinant dengue-4 virus vaccine with restricted capacity for dissemination iin mosquitoes and lack of transmission from vaccines to mosquitoes. Am J Trop Med Hyg, 2001, 65(5): 414-419.

[13] Julie H. McArthur, Anna P. Durbin, Jennifer A. Marron, et al. Phase I Clinical Evaluation of rDEN4Δ30-200,201: A Live Attenuated Dengue 4 Vaccine Candidate Designed for Decreased Hepatotoxicity. Am J Trop Med Hyg, 2008, 79(5): 678–684.

[14] Peter F. Wright, Anna P. Durbin, Stephen S. Whitehead, et al. Phase 1 Trial of the Dengue Virus Type 4 Vaccine Candidate rDEN4Δ30-4995 in Healthy Adult Volunteers. Am J Trop Med Hyg, 2009, 81(5): 834–841.

[15] Stephen S. Whitehead, Barry Falgout, Kathryn A. Hanley, et al. A Live, Attenuated Dengue Virus Type 1 Vaccine Candidate with a 30-Nucleotide Deletion in the 3 Untranslated Region Is Highly Attenuated and Immunogenic in Monkeys. J Virol, 2003, 77:1653–1657.

[16] Anna P. Durbin, Julie McArthur, Jennifer A. Marron, et al. The Live Attenuated Dengue Serotype 1 Vaccine rDEN1Δ30 is Safe and Highly Immunogenic in Healthy Adult Volunteers. Human Vaccines, 2006, 2(4): 167-173.

[17] Stephen S. Whitehead, Kathryn A. Hanley, Joseph E. Blaney Jr., et al. Substitution of the structural genes of dengue virus type 4 with those of type 2 results in chimeric vaccine candidates which are attenuated for mosquitoes, mice, and rhesus monkeys. Vaccine, 2003, 21:4307–4316.

[18] Blaney JE Jr, Hanson CT, Firestone CY, et al. Genetically modified, live attenuated dengue virus type 3 vaccine candidates. Am J Trop Med Hyg, 2004, 71(6):811-821.

[19] Anna P. Durbin, Julie H. McArthur, Jennifer A. Marron, et al. rDEN2/4Δ30(ME), a Live Attenuated Chimeric Dengue Serotype 2 Vaccine, is Safe and Highly Immunogenic in Healthy Dengue-Naïve Adults. Human Vaccines, 2006, 2(6): 255-260.

[20] Anna P. Durbina, Beth D. Kirkpatrick, Kristen K. Pierce, et al. Development and clinical evaluation of multiple investigational monovalent DENV vaccines to identify components for inclusion in a live attenuated tetravalent DENV vaccine. Vaccine, 2011, 29:7242–7250.

[21] Anna P. Durbin, Beth D. Kirkpatrick, Kristen K. Pierce, et al. A Single Dose of Any of Four Different Live Attenuated Tetravalent Dengue Vaccines Is Safe and Immunogenic in Flavivirus-naive Adults: A Randomized, Double-blind Clinical Trial. J Infect Dis, 2013, 207(6):957-965.

[22] Beth D. Kirkpatrick, Anna P. Durbin, Kristen K. Pierce, et al. Robust and Balanced Immune Responses to All 4 Dengue Virus Serotypes Following Administration of a Single Dose of a Live Attenuated Tetravalent Dengue Vaccine to Healthy, Flavivirus-Naive Adults. J Infect Dis., 2015, 212(5):702-710.

[23] Anna P. Durbin, Beth D. Kirkpatrick, Kristen K. Pierce, et al. A 12-Month–Interval Dosing Study in Adults Indicates That a Single Dose of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Tetravalent Dengue Vaccine Induces a Robust Neutralizing Antibody Response. J Infect Dis., 2016, 214(6):832-835.

[24] Kirkpatrick B D, Whitehead SS, Pierce KK, et al. The live attenuated dengue vaccine TV003 elicits complete protection against dengue in a human challenge model. Sci Transl Med, 2016, 8(330): 330-336.

[25] Iris Scherwitzl, Juthathip Mongkolsapaya, Gavin Screaton. Recent advances in human flavivirus vaccines. Current Opinion in Virology, 2017, 23:95-101.

[26] Stephen S. Whitehead1, Anna P. Durbin2, Kristen K. Pierce, et al. In a randomized trial, the live attenuated tetravalent dengue vaccine TV003 is well-tolerated and highly immunogenic in subjects with flavivirus exposure prior to vaccination. PLoS Negl Trop Dis, 2017, 11(5):e0005584.

[27] Bruno Guy, Nicholas Jackson. Dengue vaccine: hypotheses to understand CYD-TDV-induced protection. Nature Reviews Microbiology, 2016, 14(1): 45-54.

[28] Eduardo J.M. Nascimento, James K. George, Melissa Velasco, et al. Development of an anti-dengue NS1 IgG ELISA to evaluate exposure to dengue virus. Journal of Virological Methods, 2018, 257:48–57.

[29] Guy B, Briand O, Lang J, et al. Development of the sanofi Pasteur tetravalent dengue vaccine: one more step forward. Vaccine, 2015, 33(50):7100-7111.

[30] Villar L, Dayan GH, Arredondo-Garcia JL, et al. Efficacy of a tetravalent dengue vaccine in children in Latin America. N Engl J Med, 2015, 372(2):113-123.

[31] Capeding MR, Tran NH, Hadinegoro SR, et al. Clinical efficacy and safety of a novel tetravalent dengue vaccine in healthy children in Asia: a phase 3, randomized, observer-masked, placebo-controlled trial. Lancet, 2014, 384(951): 1358-1365.

[32] Stephen S. Whitehead. Development of TV003/TV005, a single dose, highly immunogenic live attenuated dengue vaccine; what makes this vaccine different from the Sanofi-Pasteur CYDTM vaccine? Expert Rev Vaccines, 2016, 15(4): 509–517.

[33] Wilder-Smith A, Messad E. Age specific differences in efficacy and safety for the CYD-tetravalent dengue vaccine. Expert Rev Vaccines, 2016,15(4):437-441.

[34] Diogo M. Magnani, Cassia G. T. Silveira, Michael J. Ricciardi, et al. Potent plasmablast-derived antibodies elicited by the National Institutes of Health Dengue Vaccine. Journal of Virology, 2017, 91(22): e00867-17.

[35] Stephen J. Popper, Fiona R. Strouts, Janet C. Lindow, et al. Early transcriptional responses after dengue vaccination mirror the response to natural infection and predict neutralizing antibody titers. The Journal of Infectious Diseases. 2018, 7: 14.

Advanced in Research Dengue Virus 3'UTRΔ30 Series Vaccines

Xu Jia-yue, Li Zi-qian, Zhang Ge *

(School of Pharmaceutical Science, Sun Yat-sen University, Guangzhou, 510006, China)

Abstract Diseases such as dengue fever caused by denugue virus lead to considerable economic, medical and social burdens every year, which seriously threaten the health of human life. Among the various dengue virus vaccines currently under study, the 3'UTRΔ30 series of live attenuated vaccines prepared by reverse genetics have shown good protection in clinical trials because of their good immunogenicity, high titer and low cost. As a consequence, research on this kind of vaccine advances fast. The 3'UTRΔ30 quadruple vaccine, one of the most promising dengue attenuated inactivated vaccines today, which can produce balanced immune protection against the four serotypes of dengue virus, is in phase III clinical trials, showing strong efficacy and few adverse reactions. It is expected to be on the market after the end of the follow-up period. In order to gain a deeper understanding of the 3'UTRΔ30 series vaccines, the origin, preparation methods and clinical research are mainly focused on.

Key words dengue virus; 3'UTRΔ30 vaccine; preparation; clinical research